

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Mechanismy odolnosti rostlin rodu *Coffea* k abiotickým stresům
Mechanisms of resistance of plants from the genus *Coffea* to abiotic stresses

Bakalářská práce

Jakub Skřivánek

Vedoucí práce/Školitel:
RNDr. Hana Konrádová, Ph.D.

Praha, 2018

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval své školitelce RNDr. Haně Konrádové, Ph.D., za její odbornou pomoc a podnětné rady, které mi dávala během psaní této práce. Stejný dík patří také konzultantce doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D. Oběma též děkuji za jejich laskavý přístup a nesmírnou trpělivost. Speciální poděkování patří Kavárně NOVÝ SVĚT, která mě inspirovala k psaní této práce, mé rodině a přátelům za psychickou podporu v období psaní této práce.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Mechanismy odolnosti rostlin rodu *Coffea* k abiotickým stresům“ vypracoval samostatně a s použitím uvedené literatury a pramenů.

V Praze, dne 9.5.2018

.....
Jakub Skřivánek

Abstrakt

Rod *Coffea* je svým rozšířením, nároky na prostředí a hospodářským významem pro lidstvo natolik specifický, že se stále častěji prosazuje jako modelový rostlinný materiál. Práce je řešena v kontextu nastupujících klimatických změn s cílem podat ucelený přehled o fyziologické odpovědi rostlin rodu *Coffea* v reakci na tři abiotické stresy – teplo, chlad a sucho. Dílčím cílem bylo porovnání odolnosti vůči těmto stresům u dvou hospodářsky významných druhů – *Coffea arabica* a *Coffea canephora*. Nelze obecně říci, který druh je odolnější, vždy záleží na konkrétním stresu. Podstatnou částí reakce na zmíněné stresy se ukázala být akumulace a změna dynamiky obsahu sacharidů. Nastíněné téma bylo zpracováno formou literární rešerše všech mně dostupných vědeckých zdrojů.

Klíčová slova: *Coffea*, extrémní teploty, nedostatek vody, sacharidy, stres, klimatická změna

Abstract

The genus *Coffea* is so specific by its distribution, requirements for environmental conditions and economic importance for humans that it is increasingly being studied as a model plant material. The thesis in the form of literary research is worked out in the context of the emerging climatic changes in order to give a comprehensive overview of the physiological responses of plants of the genus *Coffea* to three abiotic stresses – heat, cold and drought. The partial goal was to compare the resistance to these stresses of two economically significant species – *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. We cannot generally say which species is more resilient, it always depends on a particular stress. Essential parts of the reaction to these stresses have proved to be carbohydrate accumulation and content dynamics.

Key words: carbohydrates, climate change, *Coffea*, drought, extreme temperatures, stress

ÚVOD	1
1 TEPLOTNÍ STRES A STRESOVÁ ODPOVĚĚ ROSTLIN RODU COFFEA	3
1.1 VLIV SUPRAOPTIMÁLNÍCH TEPLOT	3
<i>Krátkodobé a dlouhodobé působení supraoptimálních teplot</i>	<i>4</i>
1.1.1 <i>Dynamika nestrukturních sacharidů.....</i>	<i>4</i>
1.1.1.1 Vliv krátkodobého působení na dynamiku NSC.....	5
1.1.1.2 Vliv dlouhodobého působení na dynamiku NSC.....	6
1.1.1.3 Funkce nestrukturních sacharidů	7
1.1.2 <i>Dynamiku strukturních sacharidů.....</i>	<i>7</i>
Akumulace ostatních látek s osmoprotektivním účinkem	8
1.1.3 <i>Fotosyntéza</i>	<i>8</i>
1.1.4 <i>Antioxidační a fotoprotektivní molekuly</i>	<i>9</i>
Dynamika obsahu fotoprotektivních molekul	9
Dynamika obsahu antioxidačních molekul	9
1.1.5 <i>Změny ve struktuře buněk a listů</i>	<i>10</i>
1.1.6 <i>Efekt společného působení zvýšeného CO₂ a supraoptimálních teplot</i>	<i>11</i>
1.2 VLIV SUBOPTIMÁLNÍCH TEPLOT	11
1.2.1 <i>Dynamika obsahu sacharidů</i>	<i>12</i>
1.2.1.1 Dynamika obsahu RFO.....	12
1.2.1.2 Dynamika obsahu sacharózy	12
1.2.1.3 Dynamika obsahu manitolu	13
1.2.2 <i>Fotosyntéza</i>	<i>14</i>
1.2.3 <i>Antioxidační a fotoprotektivní molekuly</i>	<i>14</i>
Dynamika obsahu fotoprotektivních molekul	14
Dynamika antioxidačních molekul	15
1.2.4 <i>Respirace</i>	<i>15</i>
1.2.5 <i>Dynamika obsahu membránových lipidů</i>	<i>15</i>
2 OSMOTICKÝ STRES A STRESOVÁ ODPOVĚĚ ROSTLIN RODU COFFEA	16
2.1 DYNAMIKA OBSAHU SACHARIDŮ.....	16
2.1.1 <i>Dynamika obsahu sacharidů rafinóзовé řady (RFO)</i>	<i>16</i>
2.1.2 <i>Dynamika obsahu manitolu</i>	<i>17</i>
2.2 VLIV OPAKOVANÉHO STRESU	18
<i>Stresová paměť.....</i>	<i>19</i>
2.3 VLIV NA FOTOSYNTÉZU	19
2.4 ZMĚNY VE STRUKTUŘE LISTU	20
2.5 ZMĚNY V ARCHITEKTUŘE KOŘENOVÉHO SYSTÉMU	20
ZÁVĚR	21
SEZNAM LITERATURY	22
INTERNETOVÉ ZDROJE.....	26

Seznam zkratek

AXP – askorbátperoxidáza

CAT – kataláza

Cu, Zn-SOD – superoxiddismutáza

GolS – galaktinolsyntáza

HSP70 – heatshock protein 70

NSC – nestrukturní sacharidy

PSII – fotosystém II

RFO – sacharidy rafinózové řady

ROS – reaktivní formy kyslíku

RS – rafinózasyntáza

Rubisco – ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxyláza/oxygenáza

Úvod

Celosvětová produkce kávy vykazuje stále vzrůstající trend – jen mezi léty 2014 a 2017 došlo k nárůstu produkce okolo 7 % což představuje asi 635 tun kávových zrn (ICO, 2018). Mezinárodní obchod s kávou má obrat ročně bezmála 90 miliard amerických dolarů a zahrnuje okolo 500 milionů zapojených osob – přes pěstování a sklizeň až ke konečnému výrobku pro konzumaci (DaMatta a Ramalho, 2006). Mezi komoditami přírodního původu má káva takovou peněžní hodnotu, že ji překonává pouze ropa (DaMatta a Ramalho, 2006).

Káva se pěstuje v cca 80 zemích na 4 kontinentech. Ideální podmínky pro pěstování kávy v masovém měřítku se nacházejí podél rovníkové zóny mezi 30 ° severní šířky a 30 ° jižní šířky, kávovníky zde rostou od hladiny moře do 2000 m.n.m. Tuto zónu ideálních podmínek nazýváme „Coffee belt“ (Anderson a Smith, 2002). Mezi největší producenty kávy patří Brazílie následovaná Kolumbií a Vietnamem. Pro některé africké země jako je Uganda, Burundi, Rwanda a Etiopie patří pěstování kávy mezi hlavní zdroje příjmů ze zahraničního obchodu (DaMatta a Ramalho, 2006). Z hospodářského hlediska jsou nejdůležitější dva druhy rodu *Coffea* – *C. arabica* a *C. canephora*. *C. arabica* pochází z etiopských tropických lesů ležících



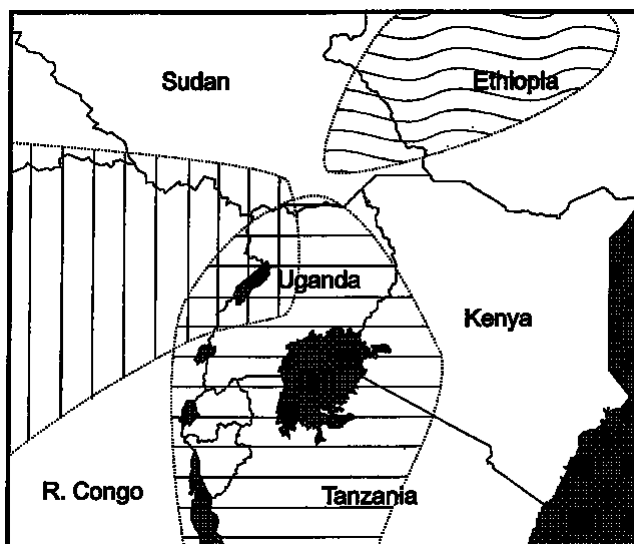
Obr. 1 Ilustrace rostliny *C. arabica* L.
(převzato z <https://commons.wikimedia.org>)

v nadmořské výšce 1600-2800 m.n.m, kde teplota vzduchu vykazuje málo sezonních výkyvů (roční průměr se pohybuje okolo 20 °C), dešťové srážky jsou rozloženy do celého roku mimo periodu sucha, která trvá 3-4 měsíce (Melke a Fetene, 2014). *C. canephora* pochází z nížinných lesů povodí řeky Kongo, které sahají až jezeru Viktorie v Ugandě. Nadmořská výška v této oblasti se pohybuje od úrovně hladiny moře až po maximum 1200 m.n.m. v Ugandě (DaMatta a Ramalho, 2006). Původní druhy rodu *Coffea* jsou stínomilné, vzhledem k prostředí, kde se vyvinuly, nicméně některé moderní šlechtěné kultivary již zvládnout růst i za přímého slunečního svitu (DaMatta a Ramalho, 2006).

Nutnost detailního porozumění reakcím těchto rostlin na změny prostředí ukazuje následující příklad popisující vliv i relativně mírného a krátkodobého kolísání teplot nad

optimum, které může mít výrazný negativní účinek na výnosy kávovníku. Vliv vyšších teplot na vývoj plodů (respektive květů) je fatální. Rostliny *C. arabica* vystavené krátkému působení vysoké teploty (45 min, 49 °C) vůbec netvoří květy, a tudíž ani plody (Marias a kol., 2017). Podobně Drinnan a Menzel (1995) pozorovali, že iniciace květů u *C. arabica* neprobíhá při teplotách vyšších než 28 °C nebo pokud je fotoperioda delší než 13 h, tvrdí též, že synchronizovat kvetení pomáhají zimní teploty 23°/18 °C (den/noc). Déšť nebo zavlažování též pozitivně stimulují kvetení a jsou nezbytné pro zdravý vývoj květů (resp. plodů) (Carr, 2001). Relativně vysoká teplota během fáze kvetení doprovázená navíc ještě delším obdobím sucha způsobuje aborce již vzniklých květů (Camargo, 2010; Carr, 2001). To může znamenat velké škody vzhledem k tomu, že každá kvetoucí plagiotropní (horizontální) větev produkuje plody obvykle jen jednou (Cannell, 1985).

Lashermes a kol. (1999) popisují ve své práci původ genomu *C. arabica*, což nám může pomoci chápat původ odolnosti vůči chladu u *C. arabica*, která bude popsána později. *C. arabica* je allotetraploid ($2n = 4x = 44$), který vznikl hybridizací mezi *C. eugenoides* ($2n = 22$) (v tomto vztahu jako samičí rodič) a *C. canephora* ($2n = 22$), jak se zdá, tato speciace *C. arabica* proběhla relativně nedávno, autoři novější studie uvádějí méně než 100 000 let (Lashermes a kol., 1999; Lashermes a kol., 2016). *C. arabica* je jediný tetraploidní druh rodu *Coffea* a je samosprašný, zatímco ostatní druhy jsou diploidní a většinou cizosprašné (Charrier a Berthaud, 1985). V současné době je *C. canephora* široce rozšířená v tropických nížinatých lesech západní a centrální Afriky, zatímco *C. eugenoides* nacházíme v horských oblastech, jelikož je lépe adaptovaná sušším a chladnějším oblastem (Lashermes a kol., 1999). Podobně *C. arabica* je adaptována k chladnějším prostředí, její centrum diverzity leží na Etiopské vysočině a na jihovýchodě Súdánu (obr. 2) (Lashermes a kol., 1999). Triploidní hybridy vzniklé křížením mezi *C. arabica* a diploidními druhy vykazují mohutný růst, nicméně jsou skoro kompletně sterilní (Charrier a Berthaud, 1985).



Obr. 2 Současná geografická distribuce *C. arabica* (vlnité šrafování), *C. eugenoides* (horizontální šrafování) a *C. canephora* (vertikální šrafování). (převzato z Lashemer a kol., 1999)

1 Teplotní stres a stresová odpověď rostlin rodu *Coffea*

Působení extrémních teplot společně s nedostatkem vody patří mezi faktory prostředí, které limitují růst současných hospodářských plodin včetně rostlin rodu *Coffea*. Jak se dá předpokládat podle zprávy Mezivládního panelu pro změny klimatu (Edenhofer a kol., 2015), těmto třem stresům (teplo, chlad, nedostatek vody) budou zřejmě rostliny v budoucnu vystaveny stále častěji a častěji v důsledku klimatické změny. Působení těchto tří abiotických stresů je předmětem této práce. Čemu rostliny často čelí (včetně rostlin rodu *Coffea*) je také působení biotických stresů. O působení těchto stresů v této práci pojednáno nebude. Časté změny teplot či nedostatek vody může být příčinou nejen výrazného negativního ovlivnění výnosů, ale také tzv. „bean defects“ a změn biochemického složení plodu (Carr, 2001), což ve výsledku ovlivňuje i finální kvalitu připraveného nápoje. Poznání jednotlivých fyziologických reakcí na tyto stresy nám může pomoci vytipovat vhodné kandidátní geny pro šlechtitelské programy, včetně těch, které umožní rozšíření oblasti pro pěstování těchto rostlin, a ještě tak zvýšit obrát z obchodování s kávovými zrny. Množství vědeckých prací využívajících rod *Coffea* jako model působení abiotický stresů, a navíc kompletní osekvenování dvou hospodářsky významných druhů rodu *Coffea* nám jasně ukazuje zájem o tuto rostlinu.

1.1 Vliv supraoptimálních teplot

Jak shrnují DaMatta a Ramalho (2006) ve svém review, které popisuje data z množství starých a ve španělštině publikovaných článků, optimální průměrná teplota pro *C. arabica* je v rozmezí 18-21 °C, zatímco optimální průměrná teplota pro *C. canephora* je mezi 22 až 30 °C. Při teplotách nad 23 °C se u *C. arabica* akceleruje zakládání a dozrávání plodů, nicméně za takových podmínek jsou plody méně kvalitní, navíc přetrvávající vystavení *C. arabica* teplotám okolo 30 °C způsobuje zpomalení růstu, žloutnutí listů a vznik tumorů při bázích větví (DaMatta a Ramalho, 2006). Rostliny zasažené tepelným stresem vykazují zejména výrazné posuny v alokaci asimilátů, které se spotřebovávají hlavně na opravy (Marias a kol., 2017). Mezi nestrukturní sacharidy (NSC – nonstructural carbohydrates) obvykle řadíme škrob a rozpustné sacharidy – sacharózu, glukózu s fruktózou a další odvozené sacharidy. Tyto sacharidy se podílejí na primárním metabolismu, zabezpečují základní životní procesy jako je růst či reprodukce a opravy rostlinných struktur (Dietze a kol., 2014). Marias a kol. (2017) prokázali, že tepelný stres má významný vliv na dynamiku některých těchto sacharidů. Na základě prostudované literatury (např. Dietze a kol., 2014) se domnívám, že funkce NSC při fyziologické odpovědi na běžně se vyskytující environmentální stres, jakým je zvýšená

teplota, je mimo jiné spojena především s jejich osmoregulační, osmoprotektivní a antioxidační schopností.

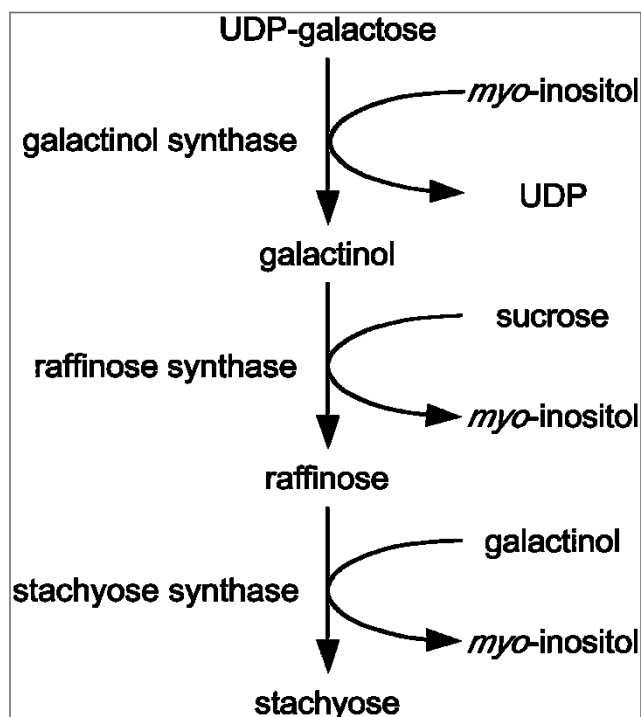
Krátkodobé a dlouhodobé působení supraoptimálních teplot

Mnoho studií zabývajících se rolí NSC při stresu způsobeném vysokými teplotami popisuje rozdílné až protichůdné výsledky, což může být způsobeno nedostatečným rozlišováním mezi dlouhodobým a krátkodobým působením stresu (akutní vs. chronická reakce). Bauweraerts a kol. (2014) říkají, že občasné tepelné šoky působí rostlinám větší stres než pozvolné zvyšování průměrné teploty, které rostlina dokáže zvládnout, a teprve až po překročení letální teploty, která je pro rozdílné druhy různá, umírá. Dlouhodobé působení vysokých teplot má za následek rozsáhlou denaturaci bílkovin, agregaci buněčných proteinů, vede též k akumulaci ROS (Reactive Oxygen Species) a inhibici transkripce a translace. Pokud je stres silnější (v intenzitě a / nebo trvání), dochází k aktivaci signální dráhy vedoucí k apoptóze (Krishna, 2004). Jak bude popsáno níže v části věnované osmotickému stresu, na aktivaci genů vedoucí k programované buněčné smrti má vliv také to, jestli působení stresu je jednorázové nebo opakované, či zdali se jedná o citlivý nebo odolnější druh (ev. klon).

1.1.1 Dynamika nestrukturních sacharidů

Existují různé skupiny NSC, které rostlinám poskytují ochranu před působením supraoptimálních teplot, jednou skupinou těchto látek jsou sacharidy rafinóзовé řady (RFO). Rafinóza je trisacharid složený z molekul galaktózy, fruktózy a glukózy. Stachyóza je tetrasacharid obsahující navíc jednu molekulu galaktózy. Rafinóza je syntetizována adicí aktivovaných molekul galaktózy (dodávaných galaktinolem) na sacharózu enzymem rafinózasyntázou (RS), stachyóza je syntetizována připojením další molekuly galaktózy enzymem stachyózasyntázou (obr. 3). První a současně pravděpodobně hlavní regulační krok této syntézy RFO je reakce, při které probíhá přenos UDP-D-galaktózy na *myo*-inositol za vzniku galaktinolu, tu katalyzuje enzym galaktinolsyntáza (GolS) (Peterbauer a Richter, 2001). U *A. thaliana* bylo nalezeno sedm různých genů pro izoformy tohoto enzymu, z toho tři byly více transkribovány během stresového působení a nesou označení *AtGolS1*, *AtGolS2* a *AtGolS3* (Taji a kol., 2002). Santos a kol. (2011) popsali, že během stresového působení dochází u *C. arabica* také ke zvýšení exprese genů pro tři různé izoformy tohoto enzymu – *CaGolS1*, *CaGolS2*, *CaGolS3*. Tito autoři si všímají, že k rozdílné expresi genů těchto izoform dochází v odlišných pletivech, a také se mění jejich exprese podle druhu stresu,

kterému jsou rostliny *C. arabica* vystaveny. Nás bude v tuto chvíli zajímat, jak se mění exprese v listech *C. arabica* v důsledku zvýšené teploty (kultivace 5 dní za teploty 37 °C). Santos a kol. (2011) pozorovali vysokou expresi izoformy *CaGolS1* již na začátku měření, nárůst exprese po 3 dnech vystavení vysoké teplotě a poté snížení exprese po 5 dnech vystavení vysoké teplotě, kdy listy začínaly vadnout. Exprese *CaGolS3* byla vyvolána pouze



Obr. 3 Schéma biosyntetické dráhy galaktinolu, rafinózy a stachyózy v rostlinách (převzato z Nishizawa a kol., 2008)

působením vysoké teploty po dobu tří dnů, naopak delší působení vysokých teplot (5 dní) vedlo ke snížení exprese. Protože v daném uspořádání experimentu nebyla pozorována žádná exprese u transkriptů *CaGolS2*, její role je pravděpodobně více specifická, jelikož ke zvýšené expresi dochází pouze v přítomnosti stresu ze zasolení či silného nedostatku vody, což Santos a kol. (2011) taktéž ověřili a bude popsáno později v příslušné části této práce. Santos a kol. (2011) popsali mimo jiné i zvýšení obsahu RFO (jmenovitě rafinózy a stachyózy) při působení tepelného stresu, obsah těchto dvou oligosacharidů se zvýšil v listech *C. arabica*

z počátečních 15 mg·g⁻¹ u rafinózy a z počátečních 25 mg·g⁻¹ u stachyózy až na 30 mg·g⁻¹ hmotnosti sušiny pro každý ze zmíněných sacharidů. Podobný nárůst obsahu těchto dvou sacharidů popsali i Martins a kol. (2016), i v tomto experimentu byl zaznamenán větší nárůst rafinózy než stachyózy, a tak se zdá, že rafinóza bude hlavní RFO, který se v případě teplotního stresu akumuluje. Na rozdíl od RFO nedošlo v pokusu Carvalha a kol. (2014) ke zvýšení obsahu manitolu v listech *C. arabica* při jejich vystavení vysokým teplotám. Manitol, jak bude popsáno později, se ovšem hromadí v listech při snížení teploty a v případě nedostatku vody. Zdá se tedy, že RFO budou primární sacharidy, které se v případě tepelného stresu akumuluji.

1.1.1.1 Vliv krátkodobého působení na dynamiku NSC

Při krátkodobém působení zvýšené teploty na rostliny *C. arabica* (45 min, 49 °C) byla ovlivněna hlavně dynamika škrobu. Obsah škrobu nejprve přechodně klesal, zatímco obsah

sacharózy, glukózy a fruktózy se nemění (Marias a kol., 2017). Marias a kol. (2017) předpokládají, že NSC se spotřebovávají na obnovu metabolismu a opravy struktur poškozených působením tepelného šoku. Pokles obsahu škrobu také může být způsoben remobilizací zásob ze zdrojových listů do kořenů (Blessing a kol., 2015). Marias a kol. (2017) pozorovali, že po několika dnech (cca 15) se začínají v listech *C. arabica* opět akumulovat NSC (hlavně škrob), což je v souladu s pozorováním kompletní obnovy fotosyntézy. Celková hladina NCS asi po 50 dnech opět klesla, a to na výchozí hodnotu. Předpoklad je, že NSC byly použity k obnovení metabolismu a vegetačního růstu. Marias a kol. (2017) hovoří o tom, že NSC u *C. arabica* vykazují v tomto případě vzorec odpovídající obnově a zásobování.

1.1.1.2 Vliv dlouhodobého působení na dynamiku NSC

Při delším tepelném působení na rostliny *C. arabica* (90 min, 49 °C) byla ovlivněna hlavně dynamika sacharózy. Její obsah přechodně narůstal a následně byla pravděpodobně využita na nezbytné opravy a ochranu před následky vzniklé dlouhým tepelným působením (Marias a kol., 2017). Tak dlouhé působení tepla je totiž doprovázeno tzv. sekundárními stresy, jako je stres osmotický či oxidativní. Sugio a kol. (2009) zmiňují, že ve vysokých koncentracích se sacharóza uplatňuje jako dobrý zhášec volných radikálů. Sacharóza se uplatňuje také jako signální molekula – reguluje vývoj rostliny (Wobus a Weber, 1999), má vliv i na expresi některých genů (Rolland a kol., 2002). Dočasný nárůst obsahu sacharózy v listech může být také způsobený narušením nebo inhibicí floémového transportu (Woodruff, 2013). Woodruff (2013) prokázal ve své práci na jiném druhu dřeviny (*Pseudotsuga menziesii*), že pokud je zvýšená potřeba transportovat sacharidy doprovázena dehydratací, může docházet k oslabování transportní kapacity floému, které je vyvoláno hlavně změnou struktury sítkových buněk a změnou viskozity floémové tekutiny. Sala a kol. (2012) tvrdí, že role NCS může být zásadní pro udržení turgoru a integrity xylému a floému. Proč se v tomto případě nemění dynamika škrobu, jako tomu je v případě krátkého působení? Několik autorů předpokládá, že takto dlouhodobější působení vyšší teplotou způsobuje, že se škrob stává nedostupný – vyskytuje se v buňkách, které podlehly tepelnému stresu (Ziegler, 1964 cit. podle Chapin a kol., 1990), nebo je příliš energeticky náročné ho využívat (Chapin a kol., 1990; Dietze a kol., 2014). Marias a kol. (2017) ukazují, že obsah sacharózy v listech *C. arabica* po přechodném zvýšení klesá a předpokládají, že sacharóza se spotřebovává na opravu, obnovu růstu a udržování metabolismu. Marias a kol. (2017) hovoří o tom, že NSC u

C. arabica vykazují v tomto případě vzorec odpovídající obnově a/nebo redukci floémového transportu.

1.1.1.3 Funkce nestrukturních sacharidů

U rostlin mají RFO tendenci se hromadit v případě stresu z nedostatku vody a mají schopnost regulovat buněčný turgor a stabilizovat buněčné proteiny, plní tedy úlohu kompatibilních solutů (Taji a kol, 2002; Bartels a Sunkar, 2005). RFO se také v případě stresu z nedostatku vody podílejí na stabilizaci membrán (Hinch a kol., 2003). Nishizawa a kol. (2008) spojují akumulaci RFO a galaktinolu s obranou buněk před poškozením ROS na základě jejich schopnosti zhaset hydroxylové radikály, která byla ovšem prokázána pouze *in vitro* s použitím kyseliny salicylové, která podle Smirnova a Cumbese (1989) obvykle reaguje s hydroxylovými radikály za vzniku 2,3-dihydroxy-benzoové kyseliny. Nishizawa a kol. (2008) ukázali, že v závislosti na množství galaktinolu a rafinózy dochází k potlačení této reakce. Stoyanova a kol. (2011) otestovali a potvrdili *in vitro* schopnost zhaset hydroxylové radikály u rafinózy a dalších sacharidů, konkrétně u trehalózy, sacharózy, inulinu a manitolu. Nedostatek podobných studií zaměřujících se na zhasení volných radikálů je, že používají obvykle pouze na modely *in vitro*, a také na zhasení pouze jednoho druhu volného radikálu (nejčastěji hydroxylový radikál). Práce z roku 2015 týmu Matros a kol. ukazuje, že se tento fenomén začíná studovat již částečně *in planta*.

1.1.2 Dynamiku strukturních sacharidů

Jak ukázali Lima a kol. (2013), tepelný stres způsobuje modifikaci buněčné stěny v listech *C. arabica* – mění se složení a obsah strukturních polysacharidů. Vystavení vysokým teplotám (37 °C) vedlo v tomto případě k nárůstu hemicelulóz přibližně o 40 %, zatímco obsah pektinů se snížil, a to přibližně o polovinu. Autoři také popsali v buněčných stěnách nárůst obsahu monosacharidových podjednotek arabinózy a galaktózy vlivem tepelného stresu v listech *C. arabica* předpokládajíce, že tento nárůst je spojený s přítomností tzv. arabinogalaktanů. Ty jsou považovány za hemicelulózy (Caffall a Mohnen, 2009). Arabinogalaktany rozdělujeme do dvou typů – I. a II. V tomto případě Lima a kol. (2013) potvrdili přítomnost arabinogalaktanů typu II, které jsou asociovány s proteiny a výsledkem jsou arabinogalaktanové proteiny. Arabinogalaktany typu II se podílejí na mnoha procesech buněčné proliferace (Lima a kol., 2013). Seifert a Roberts (2007) se domnívají, že arabinogalaktany typu II mohou být zapojeny v procesu zpevnění buněčné stěny oxidativním zesíťováním.

Akumulace ostatních látek s osmoprotektivním účinkem

Je také známo, že některé druhy rostlin v reakci na tepelný stres a s tím spojený nedostatek vody produkují a akumulují některé rozpustné sacharidy jako je např. sacharóza společně s dalšími látkami jako je prolin či glycin betain, které také plní roli osmoprotektantů (Wahid a kol., 2007). Tato produkce a akumulace osmoprotektantů v důsledku ztrát vody způsobených tepelným stresem pomáhá udržet stabilitu proteinů, udržuje strukturu membránové dvojvrstvy a také pomáhá udržovat vodní homeostázi, jak bylo ověřeno externí aplikací glycin betainu na listy rýže, které byly vystaveny stresovému působení (Farooq a kol., 2008). V listech *C. arabica* i *C. canephora* byla experimentálně potvrzena akumulace prolinu v důsledku stresového působení pouze z nedostatku vody (Maestri a kol., 1995). Menezes-Silva a kol. (2017) také pozorovali u *C. canephora* navýšení obsahu prolinu při opakovaném vystavení epizodám sucha. Hromadění prolinu specificky při tepelném stresu ovšem zatím nebylo sledováno. Studie sledující obsah glycin betainu pod vlivem stresovým podmíněk u rodu *Coffea* se zatím také žádná neprováděla, jistě by bylo přínosné se na tuto látku u tohoto rodu zaměřit. Případná transgenní rostlina akumulující glycine betain by v tomto případě měla navrch další možnost, jak se vypořádat s tepelným stresem, protože akumulace glycin betainu v chloroplastu pomáhá obnovit aktivitu enzymu ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxyláza/oxygenáza (Rubisco), který je teplem nepřímo inhibován (skrze Rubisco-aktivázu) (Yang, 2005).

1.1.3 Fotosyntéza

U dvou testovaných skupin rostlin *C. arabica* lišících se dobou působení zvýšené teploty (45 min a 90 min, 49 °C) Marias a kol. (2017) zaznamenali inhibici fotosyntézy. Inhibice fotosyntézy způsobená vysokou teplotou je vyvolána hlavně narušením transportu elektronů, což vede ke snížení regenerace substrátu enzymu Rubisco (Salvucci a Crafts-Brandner 2004). Nicméně to není jediná příčina. Jak známo, tepelný stres je doprovázený stresem oxidativním, který se projevuje především zvýšenou tvorbou ROS. Jak shrnuje ve svém review Pospíšil (2009), thylakoidní membrána (hlavně přítomný PSII) může být místem, kde vzniká největší množství těchto ROS jako důsledek environmentálního stresu (vysoká teplota, nedostatek vody, příliš světla), a také může být tato membrána velmi snadno narušena, což je důvodem, proč patří poruchy fotosyntézy mezi první indikátory stresu. ROS totiž napadají biologické membrány, a způsobují tak peroxidaci polynenasycených mastných kyselin, což vede ke snížení fluidity membrány, narušuje její integritu a může způsobovat sekundární poškození membránových proteinů (Halliwell, 2006). Fotosyntéza v listech

C. arabica se obnovila na původní hodnoty v případě kratšího působení za 15 dní, v případě delšího působení za 25 dní (Marias a kol., 2017).

1.1.4 Antioxidační a fotoprotektivní molekuly

K oxidativnímu poškození je velice citlivý fotosyntetický aparát (jakožto významný producent ROS i za optimálních podmínek), ale i ostatní důležité buněčné kompartmenty. První se nabízí disipace přebytečné energie přímo v plastidu, kterou lze částečně předejít vzniku ROS. Mezi disipační fotoprotektivní molekuly patří například karoteny a xantofyly. Další možností, je přímé zhášení vzniknuvších ROS. Zmíněna již byla schopnost některých sacharidů zhášet volné radikály, tuto schopnosti mají i jiné molekuly přítomné v buňce. Antioxidační systémy rozdělujeme na enzymatické jakými jsou např. superoxiddismutáza (Cu,Zn-SOD), askorbátperoxidáza (APX), kataláza (CAT), glutatiolreduktáza (GR) a neenzymatické jako např. askorbát, α -tokoferol, kofeinové kyseliny, ale dají se za ně považovat i zmíněné sacharidy.

Dynamika obsahu fotoprotektivních molekul

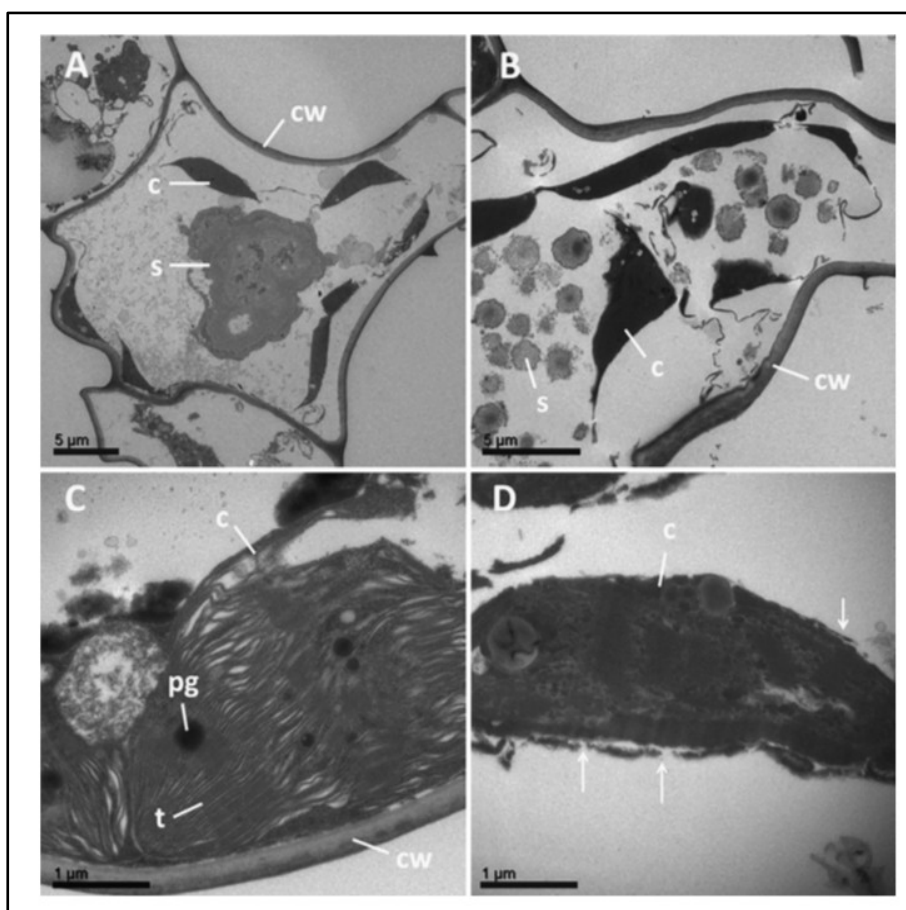
Martins a kol. (2016) pozorovali při vystavení rostlin *C. arabica* tepelnému stresu (37/30 °C a 42/34 °C) nárůst obsahu neoxantinu, zeaxantinu a také luteinu. Pozorovali nárůst i α -karotenu a β -karotenu. Při stejném sestavení experimentu *C. canephora* vykazovala podobné tendence v dynamice obsahu fotoprotektivních molekul jako *C. arabica*.

Dynamika obsahu antioxidačních molekul

Martins a kol. (2016) měřili také aktivitu antioxidačních enzymatických systémů – APX, CAT, Cu,Zn-SOD a GR. *C. arabica* při mírném navýšení teploty (37/30 °C) vykazovala navýšení aktivity GR a CAT, při dalším zvýšení na 42/34 °C se aktivita antioxidačních enzymů většinou snížila. *C. canephora* při stejném sestavení pokusu při mírném zvýšení zvýšila aktivitu téměř všech enzymů – AXP, CAT a GR, při dalším zvýšení se zvýšila aktivita již jen katalázy, ostatní enzymy svou aktivitu snížily. Zvýšení aktivity katalázy a pokles ostatních enzymů může ukazovat na přesun peroxidu vodíku vně chloroplastu, jelikož enzym kataláza není lokalizovaný v chloroplastu. Pokud se zaměříme z této práce na neenzymatické antioxidační molekuly (konkrétně na askorbát a α -tokoferol), oba typy látek vykazovaly snížení obsahu v listech při navýšení teplot, jen α -tokoferol v tomto případě *C. arabica* navýšil svůj obsah.

1.1.5 Změny ve struktuře buněk a listů

Pokud se zaměříme na strukturní změny způsobené vysokou teplotou, Lima a kol. (2013) přinesli důkaz, že dochází ke změnám struktury palisádového parenchymu. Autoři pozorovali, že vlivem tepelného působení docházelo k zvětšení mezibuněčných prostor mezi jednotlivými buňkami palisádového parenchymu, buňky se tak jevily více oddělené, a navíc byly užší než buňky kontrolní. Celková tloušťka listu byla nižší oproti kontrole. Lima a kol. také pozorovali, že mezofylové buňky vystavené vysoké teplotě (37 °C po dobu 5 dní) obsahovaly fragmentovaný škrob, což může podporovat hypotézu, že škrob se v případě stresu začne využívat/relokovat. Chloroplasty nesly také znatelné poškození viditelné pod transmisním elektronovým mikroskopem, jednalo se hlavně o poškození vnější membrány chloroplastu a thylakoidní membrány s viditelným poškozením skládání gran (obr. 4).



Obr. 4 Buňky listu *C. arabica* vystaveného působení vysoké teploty. Snímek z elektronového mikroskopu. Kontrolní buňka (A); buňka vystavená působení vysoké teploty (B); detail chloroplastu z kontrolní buňky (C); detail chloroplastu z buňky vystavené působení vysoké teploty (D). Buněčná stěna (cw); mitochondrie (m); plastoglobulus (pg); chloroplast (c); thylakoidy (t); škrob (s). Šipky označují viditelné narušení membrány (převzato z Lima a kol., 2013).

1.1.6 Efekt společného působení zvýšeného CO₂ a supraoptimálních teplot

Podle nedávných prognóz vývoje produkce skleníkových plynů by mohl obsah CO₂ v atmosféře Země do roku 2100 vzrůst přibližně na 420 až 940 μL CO₂ l⁻¹ (Edenhofer a kol., 2015). V předešlém textu jsme se zaměřovali jen na vliv samotného tepelného šoku, ale pokud k tomuto působení přidáme ještě efekt zvýšeného CO₂ (700 μL CO₂ L⁻¹), ukazuje se, že takto pěstované rostliny *C. arabica* podle Martinse a kol. (2016) dokáží výrazně mírnit efekt samotného tepelného šoku. Autoři poukazují hlavně na větší účinnost fotochemické části fotosyntézy, zvýšení aktivity enzymu Rubisco a všímají si efektu zvýšeného CO₂ na zvýšení obsahu ochranných molekul jako jsou neoxantin, lutein, karotenoidy, alfa-tokoferol, HSP70, a také na zvýšení aktivity antioxidantních enzymů jako jsou superoxiddismutáza (SOD), askorbátperoxidáza (AXP) a kataláza (CAT). Rodrigues a kol. (2016) pak připisují těmto systémům schopnost udržet obsah ROS na kontrolovatelné hladině, a tak přímý vliv tepelného šoku na fotosyntetický aparát není tak markantní. Martins a kol. (2016) považují CO₂ za klíčového hráče a naději v souvislosti s odolností rodu *Coffea* vůči tepelnému stresu v kontextu předpokládaných scénářů globálního oteplování. Nicméně tyto naděje mírní práce Bauwerta a kol. (2014), ve které autoři tvrdí, že potencionálně výhodný či zmírňující účinek zvýšeného CO₂ se zřejmě v budoucnu sníží pod vlivem častějších a intenzivnějších epizod vyšších teplot, které, jak již bylo řečeno, vyvolávají v rostlinách mnohem větší stres. V budoucnu tak bude více rozhodující intenzita a doba trvání neočekávaných tepelných událostí než průměrné zvyšování teploty. Pokud by nás zajímal rozdíl v odpovědi na zvýšený obsah CO₂ v atmosféře mezi jednotlivými druhy rodu *Coffea*, konkrétně mezi *C. arabica* a *C. canephora*, tak práce Ramalha a kol. (2013) ukazuje, že žádný jasný rozdíl mezi těmito dvěma genotypy není, a navíc jen potvrzuje, že tyto dva druhy teoreticky dokáží za optimálních podmínek úspěšně využít tohoto nárůstu CO₂ pro svůj prospěch.

1.2 Vliv suboptimálních teplot

Negativní efekt nízkých teplot na vegetativní růst rostlin *C. arabica* byl pozorovaný v lokalitách, kde měsíční průměr teplot byl pod 15-16 °C, což omezuje geografickou distribuci tohoto rodu (Barros a kol., 1997). Mráz velmi snadno může poškodit kávovníkové stromy nebo je dokáže i kompletně zabít (DaMatta a Ramalho, 2006). Několik prací (např. Ramalho a kol., 2003; Partelli a kol., 2010; Partelli a kol., 2011) se shoduje, že rod *Coffea* je citlivý vůči nízkým teplotám, ale jednotlivé druhy vykazují odlišnou toleranci a schopnost vzpamatovat se z takového stresu. Jak ukázali např. Ramalho a kol. (2003) ve své práci zkoumající vliv chladu na fotosyntézu a dynamiku obsahu sacharidů, *C. arabica* dokáže

působení chladu zvládat lépe a v konečném důsledku se dokáže rychleji a kompletně vzpamatovat z takového stresu, zatímco *C. canephora* se jeví v tomto pokusu (ale i dalších pokusech rozebraných níže) jako méně odolný druh.

1.2.1 Dynamika obsahu sacharidů

Jak popisuje několik prací (např. Ramalho a kol., 2003; Partelli a kol., 2010), vystavení rostlin rodu *Coffea* nízkým teplotám vede k dramatickým změnám obsahu některých sacharidů. Jak naznačuje práce z práce z roku 2003 od Ramalho a kol., existují ovšem výrazné odchylky mezi jednotlivými druhy rodu *Coffea* ve zvládání chladového stresu, podobné odchylky mezi druhy vykazuje i dynamika obsahu sacharidů při stresování rostlin chladem (Partelli a kol., 2010). Tito autoři nejprve rostliny *C. arabica* a *C. canephora* vystavili tzv. aklimační periodě, při které byla po dobu 24 dní snižována teplota o 0,5 °C z počátečních 25/20 °C (den/noc) na konečných 13/8 °C, poté vystavili tyto rostliny třem cyklům při teplotě 13/4 °C, a nakonec je vystavili tzv. periodě zotavení, kdy teplotu zvýšili první den na 20/15 °C a dále zvýšili na 25/20 °C po dobu 13 dní a sledovali změny v obsahu sacharidů.

1.2.1.1 Dynamika obsahu RFO

Obsah rafinózy a monosacharidů – galaktózy, fruktózy a glukózy v listech signifikantně rostl spolu se snižující se teplotou pouze u *C. arabica*. Obsah těchto zmíněných sacharidů u *C. canephora* se buď víceméně neměnil, nebo se snižoval. Autoři se domnívají, že nárůst obsahu těchto sacharidů může přispívat ke zvýšené toleranci vůči nízkým teplotám (Partelli a kol., 2010). Podobný nárůst obsahu rafinózy v listech byl například popsán u dvou genotypů odolných vůči chladu v porovnání s těmi citlivými u *Oryza sativa* (Morsy a kol., 2007). Pokud se rafinóza akumuluje v cytoplazmě, může fungovat jako tzv. kryoprotektant, to znamená, že brání krystalizaci sacharózy a zamezuje tak přímému fyzickému poškození buněčných struktur (Caffrey a kol., 1988).

1.2.1.2 Dynamika obsahu sacharózy

Obsah sacharózy se v listech *C. arabica* a *C. canephora* vždy snižoval spolu s klesající teplotou, rozdíl byl ovšem větší u *C. canephora* (Partelli a kol., 2010). Autoři spojují tento pokles obsahu sacharózy u obou druhů s opravami rostlinných pletiv, translokací sacharózy do míst akutní potřeby, dále tento pokles může být způsoben

zintenzivněním respirace (o kterém se budu blíže zmiňovat níže), jelikož produkty štěpení sacharózy mohou být použity při respiraci, a nakonec také snížením syntézy tohoto sacharidu, jelikož enzym sacharóza-fosfátsyntáza (SPS) může být citlivý k nízkým teplotám (Jones a kol., 1998), dále se sacharóza může degradovat na monosacharidy (které při měření vykazovaly nárůst). Tento pokles obsahu sacharózy potvrzuje i obdobný pokus Ramalha a kol. (2003), ve kterém se obsah sacharózy v listech *C. canephora* během experimentu (tj. po třech cyklech teplot 13/4 °C) snížil ze 100 mg·g⁻¹ na 25 mg·g⁻¹ což představuje pokles o 75 %. Fakt, že ani 14 dní po ukončení působení chladového stresu se obsah sacharózy v listech u *C. canephora* nevrátil na původní hodnoty (Ramalha a kol., 2003; Partelli a kol., 2010) signalizuje, že ani po této době pravděpodobně nedošlo ke kompletním opravám. Hodnoty *C. arabica* v obou pokusech se blížily hodnotám na začátku experimentu, to znamená že *C. arabica* dokáže chladový stres v tomto aspektu zvládat lépe a lépe se z něj vzpamatovat.

1.2.1.3 Dynamika obsahu manitolu

Manitol patří mezi nejběžnější cukerné alkoholy hexozové řady v přírodě, jeho přítomnost byla popsána u více než 100 druhů cévnatých rostlin včetně čeledi Rubiaceae (Stoop, 1996). Obsah manitolu v listech se v pokusu Partelli a kol. (2010) jak u *C. arabica*, tak *C. canephora* zvýšil spolu se snížením teploty. *C. arabica* po vystavení chladu dosáhla obsahu manitolu skoro 70 % obsahu sacharózy, manitol tak byl druhým nejzastoupenějším měřeným sacharidem (Partelli a kol., 2010). Autoři předpokládají, že využití manitolu jako fotoasimilátu a floémem přenášeného sacharidu přináší rostlinám určité výhody, zmiňují například vyšší energetický výtěžek při metabolismu manitolu, který má vyšší čistý zisk ATP než katabolismus stejného množství sacharózy, dále zmiňují funkci manitolu jako osmoregulátoru a osmoprotektantu. Na tomto místě bych také rád připomenul, že byla experimentálně ověřena schopnost manitolu zhaset hydroxylové radikály *in vitro* (Stoyanova a kol., 2011). V rostlinách je manitol syntetizován konverzí manóza-6-fosfátu na manitol-1-fosfát, která je následována defosforylací (Partelli a kol., 2010). Konverzi manóza-6-fosfátu zajišťuje NADPH-dependentní mannóza-6-fosfát reduktáza (M-6-PR). Stoop a kol. (1996) zmiňují, že syntéza manitolu může běžet současně se syntézou sacharózy či rafinózy. Partelli a kol. (2010) ovšem zaznamenali při vystavení *C. arabica* chladu nárůst všech tří zmíněných sacharidů – sacharózy, rafinózy, manitolu.

1.2.2 Fotosyntéza

Ramalho a kol. (2003) změřili u několika druhů rodu *Coffea* (včetně námi sledovaných druhů *C. arabica* a *C. canephora*) omezení fotosyntézy již při mírně snížené teplotě (15/10 °C) což značí, že již taková „malá“ změna teplot od optima může rostlinu stresovat. Omezení fotosyntézy může být vysvětleno uzavřením průduchů, jež je popisováno jako jeden z primárních efektů působení chladu na rostliny (Morcuende a kol., 1996), a tedy omezením přísunu CO₂, nicméně chladem způsobená inhibice u rodu *Coffea* je vyvolaná především biochemickými inaktivacemi na úrovni chloroplastů a tyto inaktivace jsou minimálně závislé na možném omezeném přísunu CO₂, který je způsobený silným uzavřením průduchů, jež doprovází působení chladu na rostlinu (Ramalho a kol, 2003). Autoři toto označují přímo jako biochemické „constrains“. Ramalho a kol. také pozorovali snížení účinnosti PSII v souvislosti s působením chladu, tento jev vysvětlují tak, že může být částečně způsoben přítomností fotoprotektivních molekul, které rozptylují volnou excitační energii. Mimo jiné zaznamenali snížení aktivity enzymů Calvinova cyklu, konkrétně enzymu Rubisco. Působení chladu na tento enzym může mít mnoho důsledků – jedná se buď o přímé poškození proteinu chladem či nepřímou inhibici způsobenou akumulací sacharidů, nebo naopak nedostupností substrátu pro tento enzym, vliv také může snížená aktivita Rubisco-aktivázy. Jak bylo řečeno výše, Ramalho a kol. (2003) se domnívají, že omezený přísun CO₂ nesouvisí s touto inhibicí Rubisco.

1.2.3 Antioxidační a fotoprotektivní molekuly

Dynamika obsahu fotoprotektivních molekul

C. arabica v pokusu Ramalha a kol. (2003) vykazovala větší obsah xantofylů jmenovitě – luteinu, zeaxantinu a neoxantinu, dále autoři pozorovali jen mírné zvýšení obsahu β-karotenu ze skupiny karotenů. Vyšší obsah luteinu a β-karotenu umožňuje účinněji disipovat nadměrnou excitační energii slunečního záření a zmírnit tak fotooxidační poškození fotosyntetického aparátu. Ve stejném sestavení experimentu se *C. canephora* ukázala být velmi citlivou vůči chladu a vykazovala také menší schopnost se z takového působení vůbec vzpamatovat. Již při mírně snížených teplotách (15/10 °C – den/noc) tento druh vykazoval silnou fotoinhibici a menší obsah fotoprotetivních pigmentů. Jak se zdá, působení chladu u *C. canephora* jde ruku v ruce s větší náchylností vůči fotooxidativnímu stresu, právě kvůli menšímu obsahu fotoprotetivních pigmentů.

Dynamika antioxidačních molekul

Fortunato a kol. (2010) analyzovali schopnost zvládat oxidativní stres za snížené teploty napříč rodem *Coffea*. *C. arabica*¹ vykazovala lepší schopnost zvládat oxidativní stres spojený s poklesem teploty v porovnání s *C. canephora*. *C. arabica* vykazovala systematické navýšení aktivity Cu,Zn-SOD a APX, které patří mezi enzymatické antioxidanty. *C. canephora* v tomto sestavení pokusu vykazovala navýšení aktivity jen u Cu,Zn-SOD. Co se týká neenzymatických antioxidačních molekul, tak oba zmíněné druhy vykazovaly podobné tendence s tím, že *C. arabica* měla často vyšší obsah těchto molekul v porovnání s *C. canephora*.

1.2.4 Respirace

Omezení fotosyntézy v listech rodu *Coffea* při nízkých teplotách (Ramalho a kol., 2003) limituje přísun ATP do metabolismu buňky (Partelli a kol., 2010). Nicméně potřeba ATP může indukovat navýšení dýchání (Day a Lambers, 1983). Partelli a kol (2010) změřili, že skutečně při snížení teploty pod 18/13 °C (den/noc) v listech *C. arabica* dochází k navýšení aktivity dvou enzymů dýchacího řetězce – malátdehydrogenázy a pyruvátkinázy. Partelli a kol (2010) předpokládají, že udržování aktivity enzymů dýchacího řetězce patří mezi důležité složky aklimace při vystavení rostlin chladu.

1.2.5 Dynamika obsahu membránových lipidů

Partelli a kol. (2011) se ve svém dalším experimentu zaměřili na studium dynamiky chloroplastových membránových lipidů u několika druhů rodu *Coffea*. Jak se ukázalo, i zde vykazují dva námi sledované druhy – *C. arabica* a *C. canephora* – odlišnou dynamiku. I v tomto pokusu vykazovala *C. canephora* vyšší citlivost vůči chladovému stresu, autoři tento efekt přisuzují nižší schopnosti syntetizovat lipidy *de novo* během působení chladu, což může zjevně souviset s omezenou schopností lipidové dvouvrstvy měnit složení během měnících se teplot. *C. arabica* vykazovala vyšší syntézu lipidů při snížené teplotě, to jí pravděpodobně poskytuje potenciální aklimatizační výhodu, jelikož může rychleji opravovat poškozené struktury. Jak ale zmiňují Partelli a kol. (2011), schopnost syntézy *de novo* během působení chladu není jediná a dostačující ochrana. Nižší citlivost vůči chladu pozorovaná u *C. arabica* také zřejmě může souviset s vysokým stupněm nenasycenosti lipidů, které

¹ Autor v textu označuje jako hybrid Icatu, nicméně se jedná o stejné rostliny používané v experimentech jiných autorů. Stejný druh rostlin používá například Ramalho (např. 2003, 2011) s tím, že je označuje jako *C. arabica* cv. Icatu.

Partelli a kol. (2011) také analyzovali a potvrdili tak pozorování z dřívějších let (Campos a kol., 2003), kde byl též popsán odlišný stupeň nasycenosti lipidů, které jsou součástí biologických membrán. *C. canephora* vykazovala nejnižší stupeň nenasycenosti u všech měřených lipidů. Změna dynamiky obsahu lipidů představuje pružný buněčný mechanismus aktivovaný již při mírně snížených teplotách, který se však po odeznění stresu umí obnovit do normálního stavu (Partelli a kol., 2011). Tento mechanismus musí nutně kooperovat s ostatními mechanismy, kterými rostlina reaguje na sníženou teplotu (dynamika sacharidů, kontrola oxidativního stresu), a tím tak zajistit systémovou odpověď rostliny.

2 Osmotický stres a stresová odpověď rostlin rodu *Coffea*

Nedostatek vody je jeden z nejčastějších stresů, se kterými se rostliny mohou potkat. Tento nedostatek vody ovšem může mít několik příčin a podob. Od prosté nedostupnosti vody v půdě, jejíž příčinou je nedostatek srážek, přes nedostatek vody způsobený například zvýšenými ztrátami následkem tepla či nedostupnost při vymrzání, až k zasolení půdy, kdy voda v prostředí přítomná je, ale rostlina ji nemůže kvůli nízkému osmotickému potenciálu půdního roztoku z půdy čerpat, navíc rostliny v tomto případě musí čelit negativnímu vlivu vysokého obsahu iontů, které jsou pro buňky toxické. V této části bych se rád věnoval nedostupnosti vody způsobené nedostatkem vody v prostředí a problémům souvisejícím se zasolením půdy.

2.1 Dynamika obsahu sacharidů

Osmotický stres, který doprovází prostý nedostatek vody, se ve svých účincích do jisté míry prolíná se stresy teplotními, nicméně lze vysledovat určité specifické rysy působení osmotického stresu jako takového na NSC. Jedním takovým specifickým rysem je akumulace manitolu, jak bude popsáno níže.

2.1.1 Dynamika obsahu sacharidů rafinóзовé řady (RFO)

Santos a kol. (2011) zjistili, že obsah stachyózy při vystavení rostlin *C. arabica* silnému nedostatku vody (-4,5 MPa) se zhruba zdvojnásobil, obsah rafinózy v tomto případě klesnul vůči výchozímu stavu na počátku experimentu, a tak se zdá, že hlavní funkci ochrany před možným poškozením způsobeným nedostatkem vody v tomto systému hraje stachyóza.

Ovšem existují určité rozdíly mezi rostlinnými druhy v tom, které sacharidy rafinóзовé řady jsou akumulovány v případě nedostatku vody. Například u *A. thaliana* byla zaznamenána akumulace galaktinolu (což je prekurzor RFO) a rafinózy jako reakce na nedostatek vody, zatímco nárůst stachyózy nebyl pozorován (Taji a kol., 2002).

Reakce na zasolení byla jiná. *C. arabica* vykazovala extrémní akumulaci rafinózy, zatímco žádné změny v obsahu stachyózy tým Santos a kol. (2011) nepozoroval. Druh stresu, načasování a síla stresu má zřejmě přímý vliv na množství a druh RFO, který se akumuluje v listech *C. arabica*. Přiblížení biosyntetické dráhy syntézy rafinózy a stachyózy bylo zmíněno výše. Jak již víme, nejdůležitějším krokem této syntézy je syntéza galaktinolu pomocí enzymu galaktinolsyntázy, u *C. arabica* byly popsány tři různé geny pro izoformy tohoto enzymu, které mají rozdílnou expresi během stresového působení (viz. kapitola 1.1.1 Dynamika nestrukturních sacharidů). Při vystavení rostlin *C. arabica* nedostatku vody pouze izoforma *CaGolS1* vykazovala vysokou expresi jak při působení stresu z nedostatku vody, tak během následné rehydrataci rostliny (Santos a kol., 2011). Ostatní dvě izoformy – *CaGolS2* a *CaGolS3* vykazovaly signifikantní nárůst exprese pouze při silném nedostatku vody. Jak lze z výsledků předpokládat, role těchto dvou izoform bude zřejmě více specifická, jelikož při vysoké teplotě (viz. kapitola 1.1.1) tyto izoformy nereagují zvýšením exprese. Santos a kol. (2011) také zmiňují, že *CaGolS2* vykazuje mnohem bazičtější izoelektrický bod než ostatní izoformy a předpokládají, že to souvisí s odlišnou subbuněčnou lokalizací, polymerizací a konformací tohoto enzymu.

2.1.2 Dynamika obsahu manitolu

Carvalho a kol. (2014) sledovali obsah manitolu v listech při vystavení rostlin *C. arabica* nedostatku vody a zasolení. V obou případech byla dynamika manitolu velmi podobná. V případě nedostatku vody obsah manitolu narůstal společně s intenzitou stresu, největší hodnoty dosáhl při silném nedostatku vody (-4.5 MPa), a to bezmála $70 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ čerstvé hmotnosti (nárůst téměř o 75 % oproti kontrole). Při rehydrataci rostliny obsah manitolu klesl, a to dokonce pod původní hodnotu na počátku experimentu. Carvalho a kol. (2014) se domnívají, že tento pokles může být způsoben skutečností, že produkce manitolu je alternativní cestou pro produkci jiných sacharidů, a tak energie uložená biosyntézou manitolu může být použita v jiných metabolických procesech podílejících se na zotavení z působení stresu. V případě zasolení se obsah manitolu zvyšoval postupně s délkou trvání stresu, největší nárůst byl zaznamenán mezi 6. a 12. dnem, v tomto případě se obsah manitolu zvýšil z $15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ na $40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ čerstvé hmotnosti.

Ukazuje se, že doba působení stresu má přímý vliv na expresi genů kódující enzymy účastníci se metabolismu manitolu, to se pak přímo odráží na obsahu manitolu v listech. Tým Carvahlo a kol. (2014) se zaměřil na míru exprese genu pro manóza-6-fosfátreduktázu (M6PR), stojící za konverzí manóza-6-fosfátu na manóza-1-fosfát při syntéze manitolu. Dále se zabývali genem pro fosfomanózaizomerázu (PMI), která se podílí na izomeraci manóza-6-fosfátu na fruktóza-6-fosfát, který může být poté použit v glykolýze, nicméně tato reakce může probíhat i druhým směrem a uplatňuje se tak při biosyntéze manitolu z fruktózy. Posledním sledovaným genem je gen pro NAD-dependetní manitoldehydrogenázu (MTD), který stojí za konverzí manitolu na manózu, tento enzym je důležitý pro katabolismus manitolu. Carvalho a kol. (2014) se domnívají, že změny v akumulaci manitolu během nedostatku vody a zasolení v listech *C. arabica* jsou částečně způsobeny zvýšenou expresí genů podílejících se na metabolismu manitolu. Lze tedy předpokládat, že zvýšení exprese *CaM6PR* povede k akumulaci manitolu, zatímco zvýšení exprese *CaMTD* povede k jeho větší spotřebě.

2.2 Vliv opakovaného stresu

Menezes-Silva a kol. (2017) popsali, že rostliny rodu *Coffea* vystavené opakovanému nedostatku vody zvládají tento stres mnohem lépe než rostliny vystavené pouze jedné stresové epizodě. Tato skutečnost popisuje situaci *in vivo* mnohem lépe, protože rostliny na plantážích se většinou potýkají s více epizodami stresu. Menezes-Silva a kol. (2017) porovnávali dva klony *C. canephora* s různou citlivostí vůči suchu, jednu skupinu rostlin vystavili jedné epizodě sucha a druhou skupinu vystavili opakovanému působení sucha, následně se zaměřili na změny metabolického profilu související s tímto rozdílným stresovým působením. Skupina rostlin vystavená opakovanému působení sucha jasně vykazovala schopnost rostlin aklimace, tým Menezes-Silva a kol. popsal zlepšení fotosyntetické produkce, vyšší aktivitu enzymu Rubisco a také vyšší aktivitu dvou antioxidantních enzymů – glutathionreduktázy a katalázy. Stejná skupina rostlin také měla vyšší obsah kompatibilních solutů (např. manitol), dále rostliny vykazovaly vyšší obsah některých organických kyselin (isocitrát, sukcinát, fumarát a malát), které jsou spojovány s vyšší aktivitou některých enzymů glykolýzy a Krebsovým cyklem (fosfofruktokináza, pyruvátkináza, aldoláza, malátdehydrogenáza). To se nápadně podobá aklimaci popsané v případě působení suboptimálních teplot (viz. 1.2.4 Respirace). Jak diskutují autoři této práce, tyto změny nejsou prostou aklimací spojenou pouze s expresí genů souvisejících s odolností vůči suchu, ale jedná se zřejmě o specifické přeprogramování metabolických a fyziologických procesů. V budoucnu bude jistě přínosem se zaměřit i na ostatní druhy stresu (např. nepříznivá teplota) a na jejich vliv při opakovaném působení,

případně porovnat několik hospodářsky významných druhů kávovníků a jejich schopnost tento opakovaný stres zvládat, jak již bylo řečeno, tento model experimentů odráží skutečnou situaci na stanovištích mnohem lépe.

Stresová paměť

Tzv. stresová paměť je definována jako strukturní, genetická a biochemická modifikace vyplývající ze stresové expozice, která umožňuje rostlinám si „pamatovat“ minulé environmentální události, tato paměť či „vzpomínky“ mohou zlepšit adaptaci rostlin a odolnost vůči budoucím stresovým epizodám (Fleta-Soriano a Munné-Bosch, 2016). Guedes a kol. (2018) porovnávali dva klony *C. canephora* – jeden, o kterém věděli, že je méně odolný vůči nedostatku vody (klon 109) a druhý, odolnější vůči stejnému stresu (klon 120). Guedes a kol. (2018) objevili v odolnějším klonu 49 tzv. „memory genes“ (paměťových genů, tedy genů schopných uchovat informaci o prodělané epizodě stresu). Citlivější klon obsahoval pouze 1 paměťový gen a při třetím vystavení nedostatku vody u tohoto klonu byla posílena exprese genů zodpovědných za programovanou buněčnou smrt. Paměťové geny lze definovat jako ty geny, které mají pozměněnou expresi při opakovaném vystavení stejnému stresu, zatímco nepaměťové geny vykazují odpověď pouze při prvním vystavení stresu (v případě opakovaného stresu je odpověď stejná), existuje také skupina genů, která vykazuje odlišnou odpověď až po několásobném vystavení stresu, tuto skupinu genů je označována jako geny pozdní odpovědi (Ding a kol., 2013). Paměťové geny popsané týmem Guedes a kol. v klonu 120 souvisely s dráhou kyseliny abscisové, skládáním proteinů a biotickým stresem.

2.3 Vliv na fotosyntézu

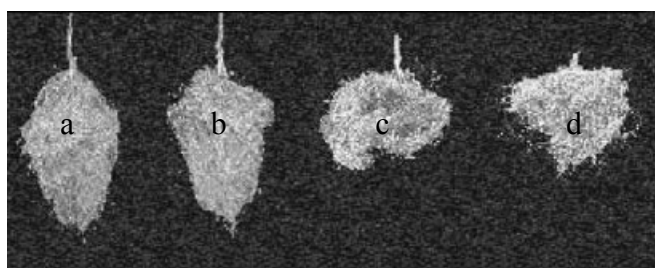
Cai a kol. (2005) se ve svém experimentu zaměřili na vliv sucha na obsah chlorofylu a ovlivnění fotosyntézy. *C. arabica* v tomto experimentu vykazovala pokles obsahu chlorofylu o 25 % pouze při silném nedostatku vody (10 dní bez závlivky) s tím, že tento druh vykazoval návrat k hodnotám naměřených v kontrolních rostlinách po 5 dnech od obnovení závlivky. Stejní autoři také pozorovali omezení rychlosti fotosyntézy již při mírném nedostatku vody (4 dny bez závlivky). Po znovuzalití rostliny vykazovaly rychlý návrat k původním hodnotám. Toto rychlé obnovení fotosyntézy pravděpodobně souvisí s vyšší aktivitou antioxidantních enzymů (konkrétně APX a SOD) a vyšším poměrem karotenoidů vůči chlorofylu, které pravděpodobně pomáhají chránit fotosyntetický aparát před poškozením oxidativním stresem a také chrání biologické membrány před lipidovou peroxidací.

2.4 Změny ve struktuře listu

Lima a kol. (2014) pozorovali strukturální poškození buněk mezofylu listů *C. arabica*, když ve svém pokusu tyto rostliny zavlažovali roztokem NaCl (150 mmol/L NaCl). Jejich výsledky naznačují změny v organizaci pektinů a hemicelulóz v buněčné stěně, což se projevilo v experimentu tak, že zmíněné polysacharidy změnily svou extrahovatelnost a velikost. Analýzou buněčné stěny listů *C. arabica* dále zjistili, že došlo ke změně složení polysacharidů a ligninu, změnilo se hlavně zesíťování polymerů buněčné stěny a navýšil se obsah záporně nabitých polysacharidů. Autoři se domnívají, že tyto změny souvisejí s přetvořením buněčné stěny v účinnější bariéru, která omezuje difúzi a brání tak vstupu solí do buňky.

2.5 Změny v architektuře kořenového systému

Na sucho adaptované druhy často mají typický hluboký kořenový systém. Pinheiro a kol. (2005) porovnávali kořenové systémy 4 různých klonů *C. canephora* s různou citlivostí vůči suchu. Klony odolnější vůči suchu vykazovaly hlubší zakořenění než ty citlivější (obr. 5), to umožňuje čerpat vodu z větších hloubek a oddálit tak případnou nastávající dehydrataci. Přímé porovnání kořenových soustav *C. canephora* a *C. arabica* zatím chybí. Dle mého názoru je dost obtížné podobnou studii realizovat, jelikož na růst kořenů může mít vliv nespočet environmentálních faktorů a ostatní (nejen) rostlinné druhy na stanovišti, proto takové výsledky případného laboratorního experimentu lze jen obtížně využít pro odhad chování v polních podmínkách.



Obr. 5 Typické kořenové systémy 4 klonů *C. canephora* rostoucích v zavlažovaném prostředí. Kořenový systém klonů odolnějších vůči suchu (a,b) ; citlivějších vůči suchu (c,d) (převzato a upraveno z Pinheiro a kol., 2005)

Závěr

Na základě specifického rozšíření, nároků na prostředí či finanční obchodovatelnou hodnotu dle mého názoru lze rod *Coffea* považovat za cenný modelový rostlinný materiál a předpokládám, že zájem o něj bude v budoucnu sílit. Jelikož již dnes máme k dispozici kompletně osekvenovaný genom *C. arabica* i *C. canephora*, lze v budoucnu očekávat více studií zaměřených na jednotlivé geny a jejich působení, včetně jejich regulace a vzájemných interakcí. Práce Guedes a kol. (2018) týkající se paměťových genů je v tomto ohledu horkou novinkou a je téměř jisté, že podobné geny bude žádoucí přenášet do méně odolných druhů. Další důležitou složkou stresové odpovědi, jak je v této práci naznačeno, je změna dynamiky, popřípadě akumulace sacharidů. Jednotlivé zmíněné mechanismy, tak jak jsou v této práci uvedeny, nepůsobí v rostlině odděleně, ale naopak jsou součástí komplexní odpovědi. Z tohoto hlediska bude jistě také zajímavé studovat působení více stresů zároveň, což lépe odpovídá skutečným podmínkám na plantážích, ať už bude studium zaměřeno na dynamiku obsahu různých molekul či expresi cílových genů. Poznatky shromážděné v této práci ukazují, že je ještě daleko k cílové superodolné rostlině s dostatečně kvalitními plody, nicméně poznání jednotlivých mechanismů a působení produktů klíčových genů nám může pomoci vytipovat vhodné kandidáty pro šlechtění.

Seznam literatury

- Anderson KA, Smith BW (2002) Chemical Profiling To Differentiate Geographic Growing Origins of Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:2068–2075.
- Barros RS, da S.e Mota JW, Da Matta FM, Maestri M (1997) Decline of vegetative growth in *Coffea arabica* L. in relation to leaf temperature, water potential and stomatal conductance. *Field Crops Research* 54:65–72.
- Bartels D, Sunkar R (2005) Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24:23–58.
- Bauweraerts I, Ameye M, Wertin TM, McGuire MA, Teskey RO, Steppe K (2014) Water availability is the decisive factor for the growth of two tree species in the occurrence of consecutive heat waves. *Agricultural and Forest Meteorology* 189–190:19–29.
- Bitá CE, Gerats T (2013) Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers in Plant Science* 4:273
- Blessing CH, Werner RA, Siegwolf R, Buchmann N (2015) Allocation dynamics of recently fixed carbon in beech saplings in response to increased temperatures and drought. *Tree Physiology* 35:585–598.
- Caffall KH, Mohnen D (2009) The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. *Carbohydrate Research* 344:1879–1900.
- Caffrey M, Fonseca V, Leopold AC (1988) Lipid-Sugar Interactions: Relevance to Anhydrous Biology. *PLANT PHYSIOLOGY* 86:754–758.
- Cai Z-Q, Chen Y-J, Guo Y-H, Cao K-F (2005) Responses of two field-grown coffee species to drought and re-hydration. *Photosynthetica* 43:187–193.
- Camargo MBP de (2010) The impact of climatic variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. *Bragantia* 69:239–247.
- Campos PS, Quartín V nia, Ramalho J chicho, Nunes MA (2003) Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of Plant Physiology* 160:283–292.
- Cannell MGR (1985) Physiology of the Coffee Crop. In: Clifford MN, Willson KC (eds) *Coffee*. Springer US, Boston, MA, pp 108–134.
- Carr MKV (2001) The water relations and irrigation requirements of coffee. *Experimental Agriculture* 37:1–36.
- de Carvalho K, Petkowicz CLO, Nagashima GT, Besspalhok Filho JC, Vieira LGE, Pereira LFP, Domingues DS (2014) Homeologous genes involved in mannitol synthesis reveal unequal contributions in response to abiotic stress in *Coffea arabica*. *Molecular Genetics and Genomics* 289:951–963.
- Charrier A, Berthaud J (1985) Botanical Classification of Coffee. In: Clifford MN, Willson KC (eds) *Coffee*. Springer US, Boston, MA, pp 13–47.

- DaMatta FM, Ramalho JDC (2006) Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18:55–81.
- Day DA, Lambers H, Azcon-Bieto J (1983) The regulation of glycolysis and electron transport in roots. *Physiologia Plantarum* 58:155–166.
- Dietze MC, Sala A, Carbone MS, Czimeczik CI, Mantooth JA, Richardson AD, Vargas R (2014) Nonstructural Carbon in Woody Plants. *Annual Review of Plant Biology* 65:667–687.
- Ding Y, Liu N, Virlouvet L, Riethoven J-J, Fromm M, Avramova Z (2013) Four distinct types of dehydration stress memory genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology* 13:229.
- Drinnan JE, Menzel CM (1995) Temperature affects vegetative growth and flowering of coffee (*Coffea arabica* L.). *Journal of Horticultural Science* 70:25–34.
- Edenhofer O, Pichs-Madruga R, Sokona Y, Minx JC, Farahani E, Kadner S, Seyboth K, Adler A, Baum I, Brunner S, Eickmeier P, Kriemann B, Savolainen J, Schlomer S, Stechow C von, Zwickel T, Intergovernmental Panel on Climate Change (eds) (2015) *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change ; Summary for Policymakers Technical Summary ; Part of the Working Group III Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Intergovernmental Panel on Climate Change, Geneva, Switzerland.
- Chapin FS, Schulze E-D, Mooney HA (1990) The Ecology and Economics of Storage in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2:423–447.
- Farooq M, Basra SMA, Wahid A, Cheema ZA, Cheema MA, Khaliq A (2008) Physiological Role of Exogenously Applied Glycinebetaine to Improve Drought Tolerance in Fine Grain Aromatic Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science* 194:325–333.
- Fleta-Soriano E, Munné-Bosch S (2016) Stress Memory and the Inevitable Effects of Drought: A Physiological Perspective. *Frontiers in Plant Science* 7:143
- Fortunato AS, Lidon FC, Batista-Santos P, Eduardo Leitão A, Pais IP, Ribeiro AI, Cochicho Ramalho J (2010) Biochemical and molecular characterization of the antioxidative system of *Coffea* sp. under cold conditions in genotypes with contrasting tolerance. *Journal of Plant Physiology* 167:333–342.
- Guedes FA de F, Nobres P, Rodrigues Ferreira DC, Menezes-Silva PE, Ribeiro-Alves M, Correa RL, DaMatta FM, Alves-Ferreira M (2018) Transcriptional memory contributes to drought tolerance in coffee (*Coffea canephora*) plants. *Environmental and Experimental Botany* 147:220–233.
- Halliwell B (2006) Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology* 141:312–322.
- Hincha DK, Zuther E, Heyer AG (2003) The preservation of liposomes by raffinose family oligosaccharides during drying is mediated by effects on fusion and lipid phase transitions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1612:172–177.
- Jones TL, Tucker DE, Ort DR (1998) Chilling Delays Circadian Pattern of Sucrose Phosphate Synthase and Nitrate Reductase Activity in Tomato. *Plant Physiology* 118:149–158.

- Krishna P (2003) Plant responses to heat stress. In: Hirt H, Shinozaki K (eds) Plant Responses to Abiotic Stress. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 73–101.
- Lashermes P, Combes M-C, Robert J, Trouslot P, D'Hont A, Anthony F, Charrier A (1999) Molecular characterisation and origin of the *Coffea arabica* L. genome. *Molecular and General Genetics* 261:259–266.
- Lashermes P, Hueber Y, Combes M-C, Severac D, Dereeper A (2016) Inter-genomic DNA Exchanges and Homeologous Gene Silencing Shaped the Nascent Allopolyploid Coffee Genome (*Coffea arabica* L.). *G3: Genes|Genomes|Genetics* 6:2937–2948.
- de Lima RB, dos Santos TB, Vieira LGE, de Lourdes Lúcio Ferrarese M, Ferrarese-Filho O, Donatti L, Boeger MRT, de Oliveira Petkowicz CL (2014) Salt stress alters the cell wall polysaccharides and anatomy of coffee (*Coffea arabica* L.) leaf cells. *Carbohydrate Polymers* 112:686–694.
- Lima RB, dos Santos TB, Vieira LGE, Ferrarese M de LL, Ferrarese-Filho O, Donatti L, Boeger MRT, Petkowicz CL de O (2013) Heat stress causes alterations in the cell-wall polymers and anatomy of coffee leaves (*Coffea arabica* L.). *Carbohydrate Polymers* 93:135–143.
- Maestri M, Da Matta FM, Regazzi AJ, Barros RS (1995) Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water stressed coffee plants (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Journal of Horticultural Science* 70:229–233.
- Marias DE, Meinzer FC, Still C (2017) Impacts of leaf age and heat stress duration on photosynthetic gas exchange and foliar nonstructural carbohydrates in *Coffea arabica*. *Ecology and Evolution* 7:1297–1310.
- Martins MQ, Rodrigues WP, Fortunato AS, Leitão AE, Rodrigues AP, Pais IP, Martins LD, Silva MJ, Reboredo FH, Partelli FL, Campostrini E, Tomaz MA, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros AI, Lidon FJC, DaMatta FM, Ramalho JC (2016) Protective Response Mechanisms to Heat Stress in Interaction with High [CO₂] Conditions in *Coffea* spp. *Frontiers in Plant Science* 7:947
- Matros A, Peshev D, Peukert M, Mock H-P, Van den Ende W (2015) Sugars as hydroxyl radical scavengers: proof-of-concept by studying the fate of sucralose in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 82:822–839.
- Melke A, Fetene M (2014) Eco-physiological basis of drought stress in coffee (*Coffea arabica*, L.) in Ethiopia. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 26:225–239.
- Menezes-Silva PE, Sanglard LMVP, Ávila RT, Morais LE, Martins SCV, Nobres P, Patreze CM, Ferreira MA, Araújo WL, Fernie AR, DaMatta FM (2017) Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee. *Journal of Experimental Botany* 68:4309–4322.
- Morcuende R, Perez P, Martinez-Carrasco R, Martin Del Molino I, Sanchez De La Puente L (1996) Long- and short-term responses of leaf carbohydrate levels and photosynthesis to decreased sink demand in soybean. *Plant, Cell and Environment* 19:976–982.

- Morsy MR, Jouve L, Hausman J-F, Hoffmann L, Stewart JM (2007) Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. *Journal of Plant Physiology* 164:157–167.
- Nishizawa A, Yabuta Y, Shigeoka S (2008) Galactinol and Raffinose Constitute a Novel Function to Protect Plants from Oxidative Damage. *Plant Physiology* 147:1251–1263.
- Partelli FL, Batista-Santos P, Scotti-Campos P, Pais IP, Quartin VL, Vieira HD, Ramalho JC (2011) Characterization of the main lipid components of chloroplast membranes and cold induced changes in *Coffea* spp. *Environmental and Experimental Botany* 74:194–204.
- Partelli FL, Vieira HD, Rodrigues APD, Pais I, Campostrini E, Chaves MMCC, Ramalho JC (2010) Cold induced changes on sugar contents and respiratory enzyme activities in coffee genotypes. *Ciência Rural* 40:781–786.
- Peterbauer T, Richter A (2001) Biochemistry and physiology of raffinose family oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seeds. *Seed Science Research* 11:185–197.
- Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Loureiro ME, Ducatti C (2005) Drought Tolerance is Associated with Rooting Depth and Stomatal Control of Water Use in Clones of *Coffea canephora*. *Annals of Botany* 96:101–108.
- Pospíšil P (2009) Production of reactive oxygen species by photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1787:1151–1160.
- Ramalho JC, Quartin VL, Leitão E, Campos PS, Carelli MLC, Fahl JJ, Nunes MA (2003) Cold Acclimation Ability and Photosynthesis among Species of the Tropical *Coffea* Genus. *Plant Biology* 5:631–641.
- Ramalho JC, Rodrigues AP, Semedo JN, Pais IP, Martins LD, Simões-Costa MC, Leitão AE, Fortunato AS, Batista-Santos P, Palos IM, Tomaz MA, Scotti-Campos P, Lidon FC, DaMatta FM (2013) Sustained Photosynthetic Performance of *Coffea* spp. under Long-Term Enhanced [CO₂] Araújo WL (ed). *PLoS ONE* 8:e82712.
- Rodrigues WP, Martins MQ, Fortunato AS, Rodrigues AP, Semedo JN, Simões-Costa MC, Pais IP, Leitão AE, Colwell F, Goulao L, Máguas C, Maia R, Partelli FL, Campostrini E, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros AI, Lidon FC, DaMatta FM, Ramalho JC (2016) Long-term elevated air [CO₂] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supra-optimal temperatures in tropical *Coffea arabica* and *C. canephora* species. *Global Change Biology* 22:415–431.
- Rolland F, Moore B, Sheen J (2002) Sugar Sensing and Signaling in Plants. *The Plant Cell* 14:S185–S205.
- Sala A, Woodruff DR, Meinzer FC (2012) Carbon dynamics in trees: feast or famine? *Tree Physiology* 32:764–775.
- Salvucci ME, Crafts-Brandner SJ (2004) Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 120:179–186.
- dos Santos TB, Budzinski IGF, Marur CJ, Petkowicz CLO, Pereira LFP, Vieira LGE (2011) Expression of three galactinol synthase isoforms in *Coffea arabica* L. and accumulation of

- raffinose and stachyose in response to abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 49:441–448.
- Seifert GJ, Roberts K (2007) The Biology of Arabinogalactan Proteins. *Annual Review of Plant Biology* 58:137–161.
- Smirnoff N, Cumbes QJ (1989) Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28:1057–1060.
- Stoop J, Williamson J, Masonpharr D (1996) Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress. *Trends in Plant Science* 1:139–144.
- Stoyanova S, Geuns J, Hideg É, Van Den Ende W (2011) The food additives inulin and stevioside counteract oxidative stress. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 62:207–214.
- Sugio A, Dreos R, Aparicio F, Maule AJ (2009) The Cytosolic Protein Response as a Subcomponent of the Wider Heat Shock Response in Arabidopsis. *Plant Cell* 21:642–654.
- Taji T, Ohsumi C, Iuchi S, Seki M, Kasuga M, Kobayashi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2002) Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal* 29:417–426.
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad M (2007) Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany* 61:199–223.
- Wobus U, Weber H (1999) Sugars as Signal Molecules in Plant Seed Development. *Biological Chemistry* 380:937–944.
- Woodruff DR (2014) The impacts of water stress on phloem transport in Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 34:5–14.
- Yang X (2005) Genetic Engineering of the Biosynthesis of Glycinebetaine Enhances Photosynthesis against High Temperature Stress in Transgenic Tobacco Plants. *Plant Physiology* 138:2299–2309.
- *Ziegler H (1964) Storage, mobilization and distribution of reserve material in trees. In: *The Formation of Wood in Forest Trees*. Academic Press, New York, pp 307–320.

Internetové zdroje

Total production by all exporting countries International Coffee Organization (ICO).

http://www.ico.org/trade_statistics.asp?section=Statistics (3 May 2018, date last accessed).

Illustration of COFFEA arabica L. Wikimedia Commons Wikimedia Commons.

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Diagram_of_Coffea_arabica-cropped.jpg (24 April 2018, date last accessed).